

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der
Universität Marburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN NACHWEIS DER FAKTOREN
InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21)
AN SPEICHEL, SCHWEISS, NASENSEKRET UND SPERMA

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

GERHARD JORCH

aus Neuhaus

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der
Universität Marburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN NACHWEIS DER FAKTOREN
InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21)
AN SPEICHEL, SCHWEISS, NASENSEKRET UND SPERMA

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

GERHARD JORCH

aus Neuhaus

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen im Fachbereich Humanmedizin

der Universität Marburg am 6. August 1976

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath

Referent: Prof. Dr. I. Oepen

Correferent: Prof. Dr. F. Schleyer

Meinen lieben Eltern

I n h a l t

	Seite
A. <u>Einleitung: Bisher vorliegende Befunde</u>	
I. Gm- und InV-System	7
1. Historischer Überblick	7
2. Lokalisation der Merkmale auf den Immunglobulinen	8
II. Nachweis von Gm- und InV-Faktoren in Körperflüssigkeiten	11
1. Nachweis von Gm- und InV-Faktoren im Blut . .	11
2. Untersuchungen über Gm- und InV-Faktoren sowie Immunglobuline in Körpersekreten . . .	12
III. Aufgabenstellung	13
 B. <u>Eigene Untersuchungen</u>	
I. InV(1)-Nachweis in Speichelspuren	15
1. Fragestellung	15
2. Untersuchungsgut	15
3. InV(1)-Nachweis im Serum (Hämagglutinations- Hemmtest)	16
4. Prinzip des InV(1)-Nachweises in Sekret- spuren	18
5. Vorversuche zum InV(1)-Nachweis in Speichelspuren	19
a) Speichelentnahme	20
b) Absättigung der Antiseren	21
c) Agglutinationsreaktion	23
6. Hauptversuch zum InV(1)-Nachweis in Speichelspuren	25
7. Korrelation mit der Ausscheidereigenschaft für ABH-Substanzen	27
a) Fragestellung	27
b) Versuchsanordnung	27
c) Ergebnisse	28
8. Quantitative Nachweisgrenze des InV(1)- faktors	30

a) Fragestellung	30
b) Versuchsanordnung	30
c) Ergebnisse und Auswertung	30
9. Stabilität der InV(1)-Substanz in Speichelspuren	32
10. Nachweis des InV(1)-Merkmals an Zigaretten- stummeln	33
11. Versuch des InV(1)-Nachweises an Brief- marken und Briefumschlägen	34
a) Fragestellung	34
b) Versuchsanordnung	35
c) Auswertung	35
II. Versuch des InV(1)-Nachweises an Schweißspuren	37
1. Fragestellung	37
2. Versuchsanordnung	37
3. Ergebnisse	37
III. Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) an Nasensekretspuren .	39
1. Fragestellung	39
2. Versuchsanordnung	39
3. Ergebnisse	40
IV. Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) an Spermaspuren	42
1. Fragestellung	42
2. Versuchsanordnung	42
3. Ergebnisse	43
C. <u>Diskussion</u>	46
D. <u>Zusammenfassung</u>	53
E. <u>Literatur</u>	55

A. Einleitung: Bisher vorliegende Befunde

I. Gm- und InV-System

1. Historischer Überblick

Erythrozyten der Eigenschaft OD können, wenn sie mit geeigneten inkompletten Anti-D-Seren "beladen" wurden, durch bestimmte Antiseren (die zunächst von Rheumatikern gewonnen wurden) agglutiniert werden. 1956 berichteten GRUBB sowie GRUBB und LAURELL, daß die Seren mancher Menschen in der Lage seien, diese Agglutination zu hemmen. Da die Hemmsubstanz der Gammaglobulinfraktion angehörte, nannte man sie Gm. Bis heute wurden über 20 Faktoren dieser Art gefunden. Etwa in chronologischer Reihenfolge ihrer Entdeckung werden sie als Gm(1), Gm(2) usw. bezeichnet. Ein Träger des Faktors Gm(1) ist Gm(1+); bei Gm(1-)-Personen fehlt der Faktor. 1962 beschrieben ROPARTZ et al. einen Faktor mit ähnlichen Eigenschaften wie die Gm-Faktoren, der InV genannt wurde, auch von dieser Art sind heute mehrere Faktoren beschrieben (InV(1), InV(2), InV(3)). Für den Nachweis dieser Faktoren werden die Testerythrozyten mit einem Anti-D-Serum beladen, das den jeweiligen Faktor (allein) aufweist. Auch die Anti-Gm- bzw. InV-Seren müssen monospezifisch hinsichtlich des untersuchten Faktors sein.

2. Lokalisation der Merkmale auf den Immunglobulinen

Mit der Erforschung der chemischen Struktur der Immunglobuline (Antikörper) wurde mehr über die Natur der Gm- und InV-Faktoren bekannt. Sie wurden als genetisch gesteuerte Varianten der Proteinkettenstruktur der Immunglobuline erkannt (HUMPHREY und WHITE). Diese Strukturvarianten wirken als Antigene und können so mit geeigneten Antiseren nachgewiesen werden. Abb. 1 zeigt das Grundschemata aller Immunglobuline:

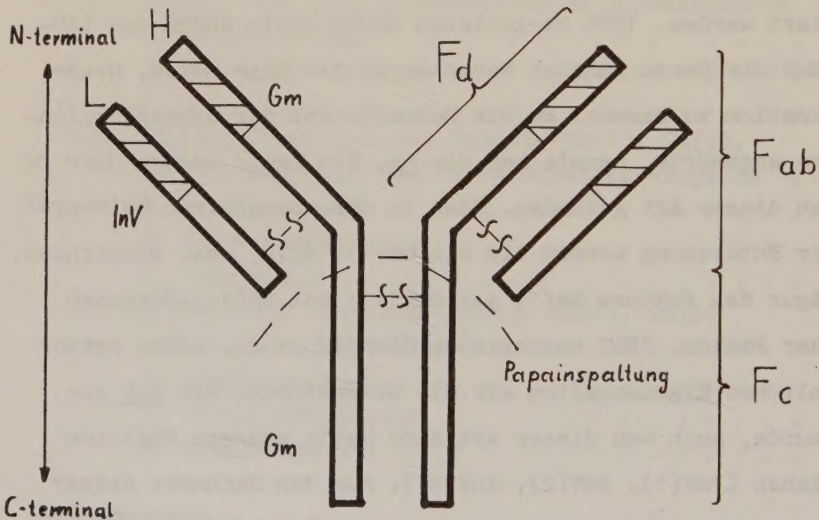


Abb. 1. Immunglobulinschema (nach THIELE)

 = variabler Teil  = konstanter Teil

H = lange Kette L = kurze Kette; weitere Erklärungen im Text

Diese setzen sich aus zwei identischen Hälften, die über eine oder mehrere Disulfidbrücken miteinander verbunden sind,

zusammen. Jede Hälfte besteht aus einer langen Kette (heavy chain = H-Kette) und einer kurzen Kette (light chain = L-Kette), die ihrerseits durch eine Disulfidbrücke miteinander gekoppelt sind. Der N-terminale Teil aller Ketten variiert als antigenbindender Bezirk in seiner Aminosäuresequenz. Der C-terminale Teil ist innerhalb einer Antikörperklasse weitgehend konstant. Die bisher bekannten Immunglobulinklassen IgG, IgA, IgM, IgD und IgE unterscheiden sich u. a. in der Struktur ihrer H-Ketten, die analog gamma-, alpha-, my-, delta- und epsilon-Ketten genannt werden. Von den L-Ketten sind 2 Typen bekannt: kappa- und lambda-Ketten. Diese treten in allen Immunglobulinklassen mit einer Häufigkeit von 70% bzw. 30% auf. Vom IgG sind 4 Unterklassen (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) mit unterschiedlichen gamma-Ketten beschrieben worden. Deren prozentuale Verteilung innerhalb der IgG-Fraktion wird von NATVIG und KUNKEL mit 70%, 18%, 8% und 3% angegeben. Durch proteolytische Spaltung mit Papain läßt sich ein Immunglobulinmolekül in 3 Stücke zerlegen: 2 von ihnen sind identisch und werden "Fab-Fragmente" genannt. Das dritte trägt die Bezeichnung "Fc-Fragment". Durch Disulfidbrückenspaltung erhält man dann weiter aus einem Fab-Fragment 1 "Fd-Fragment" genanntes Stück und die kappa- bzw. lambda-Kette.

Alle bisher beschriebenen Strukturen sind jedem Individuum zu eigen. Die einzelnen als Gm- und InV-Faktoren bezeichneten Strukturvarianten finden sich dagegen nicht bei allen Menschen. Die Häufigkeit der einzelnen Faktoren schwankt von Population zu Population. Die Lokalisation einiger Gm-Faktoren ermittelten TURNER et al. durch Pepsinspaltung des IgG-Moleküls mit nach-

folgendem Nachweis der einzelnen Faktoren in den verschiedenen Fragmenten. Bei GRUBB findet sich eine Zusammenstellung der bekannten Lokalisationen (Tab. 1).

Aus den angeführten Kenntnissen über die Struktur der Immunglobuline lassen sich zwei für die vorliegende Arbeit wichtige Folgerungen ableiten: 1. Gm-Faktoren lassen sich nur bei ausreichenden Mengen von IgG in den Körpersekreten nachweisen. 2. Der InV-Nachweis ist von der Gesamtimmunglobulin-Konzentration abhängig (hauptsächlich IgG, IgA und IgM, da IgD und IgE nur in geringen Mengen vorkommen).

Für den Nachweis der in Tab. 1 aufgeführten Faktoren liegen Antiseren als Handelspräparate vor.

Tab. 1. Die Daten der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gm- und InV-Faktoren (nach Angaben von PROKOP und UHLENBRUCK, GRUBB, WIEBECKE sowie NATVIG und KUNKEL)

Faktor	Erstbeschreiber	Frequenz (Europa)	Lokalisation
Gm(1)	GRUBB/LAURELL 1956	50-65%	Fc-Fragment des IgG ₁
Gm(2)	HARBOE/LUNDEVALL 1959	um 20%	Fc-Fragment des IgG ₁
Gm(4)	GOLD et al. 1965	um 90%	Fd-Fragment des IgG ₁
Gm(5)	HARBOE 1959	um 90%	Fc-Fragment des IgG ₃
Gm(21)	NATVIG 1966	um 50%	Fc-Fragment des IgG ₃
InV(1)	ROPARTZ et al. 1962	um 15%	kappa-Ketten aller Immunglobuline

II. Nachweis von Gm- und InV-Faktoren in Körperflüssigkeiten

1. Nachweis von Gm- und InV-Faktoren im Blut

In der Rechtsmedizin gewannen das Gm- und das InV-System in kurzer Zeit große Bedeutung. Der Polymorphismus, die konstante Ausprägung vom 8. Lebensmonat an, die Entwicklung der Nachweismethodik und zunehmende Kenntnisse über den Erbgang ließen eine immer größere Zahl von Faktoren der beiden Systeme für den serologischen Vaterschaftsnachweis geeignet erscheinen. Auch in der Routineuntersuchung zur Typisierung von Blutspuren haben sie Eingang gefunden (SCHLEYER). Blutspuren können so der Person aus einem Kreis von Verdächtigen zugeordnet werden, die sie verursacht hat. Wenn keine Tatverdächtigen bekannt sind, erlauben die für bestimmte Rassen typischen Gm-Konstellationen immerhin einen Hinweis auf die Rassenzugehörigkeit der gesuchten Person (BLANC et al.), da die Merkmalskombinationen in verschiedenen Populationen unterschiedliche Frequenzen aufweisen. Der Nachweis von Gm- und InV-Faktoren gelingt aufgrund des hohen Immunglobulinpiegels im Blut selbst an sehr kleinen Spurenmengen. Beachtlich ist die Stabilität von Gm-Substanzen. Sie können an Blutspuren und alten Blutproben noch nach 15 Jahren nachgewiesen werden und verhalten sich auch ziemlich resistent gegenüber Erhitzung und verschiedenen chemischen Reagenzien (Zusammenstellung bei PROKOP und UHLENBRUCK).

2. Untersuchungen über Gm- und InV-Faktoren sowie Immunglobuline in Körpersekreten

Über die Anwendung des Gm- und InV-Systems bei der Typisierung von Sekretspuren finden sich bis heute nur spärliche Hinweise.

Schon 1962 versuchte KRÄMER, Gm(1) im Speichel von Gm(1+)-Probanden nachzuweisen. Es gelang ihm weder am Rohspeichel noch an speichelgetränktem Filterpapier. Verständlich wird dieser Befund durch die Erkenntnis, daß das Hauptimmunglobulin des Serums, IgG, im Speichel nur in sehr kleinen Mengen vorkommt und hier durch das wichtigste Immunglobulin des "sekretorischen Immunsystems", das IgA, ersetzt wird (TOMASI). BRANDTZAEG et al. machten quantitative Untersuchungen über die Konzentrationen von IgG, IgA und IgM in verschiedenen Körpersekreten. Die sehr detaillierten Untersuchungen erfaßten auch individuelle Schwankungen, Korrelationen zum Serumspiegel, Abhängigkeit der Konzentration von der Sekretionsrate und andere Daten zur Sekretion von Immunglobulinen (s. auch Teil C).

OEPEN erwähnt in ihrer ausführlichen Übersicht über Angaben zu Blutgruppennachweisen in Körpersekreten keinen Gm- bzw. InV-Nachweis im Schweiß. BRANDTZAEG et al. ermittelten nur geringe Konzentrationen von IgG und IgA in diesem Sekret.

Auch für das Nasensekret liegen keine Angaben über einen Gm- bzw. InV-Nachweis vor. Die oben genannten Autoren bestimmten auch im Nasensekret die Konzentrationen von IgG, IgA und IgM. Auffällig war hier besonders die starke Ausscheidung von IgA (s. Tab. 15).

Während NIELSEN und HENNINGSEN keine Gm-Substanz im Sperma feststellen konnten, gelang KRÄMER der Nachweis des Faktors Gm(1). Er vermutete, daß das Gelingen des Nachweises von der Existenz zelliger Elemente im Ejakulat abhängig sei. KLOSE und SCHRAVEN sowie LEONHARDT fanden ebenfalls Gm(1)-Substanz im Sperma. Sie nahmen jedoch einen Zusammenhang mit dem Sekretorstatus für ABH-Substanzen an.

Immunglobuline wurden im Sperma von zahlreichen Autoren elektrophoretisch nachgewiesen (H. LEITHOFF und I. LEITHOFF sowie TSUGAWA et al.). BLENK et al. bestimmten die Konzentration von IgG und IgA im Sperma bei Normalpersonen und Patienten mit Entzündungen im Bereich des Genitalsystems. Es dominierte das IgG, das bei Entzündungen zusätzlich stark anstieg. RÜMKE stellte in seinen quantitativen Untersuchungen ähnliche Konzentrationen fest und vermutete, daß die Immunglobuline in der Prostata sezerniert werden.

III. Aufgabenstellung

Im Gegensatz zur Anwendung des Gm- und InV-Systems bei der Blutspurentypisierung ist über die Nachweisbarkeit seiner Faktoren in Körpersekreten wenig bekannt. Dabei sind Kenntnisse darüber aus zwei Gründen von forensischer Bedeutung:

- 1) Möglichkeit der Typisierung von Sekretspuren.
- 2) Gm- und InV-Faktoren in Sekretspuren könnten eine Fehlerquelle für Blutspurenuntersuchungen darstellen, wenn in einer Spur gleichzeitig Blut und Sekret vorliegen (Beispiel: Blutfleck auf

einem mit Nasensekret benetzten Taschentuch).

Aufgrund der in der letzten Zeit in den Handel gekommenen Antiseren für Bestimmungen im Gm- und InV-System und der Kenntnisse über die Ausscheidung von Immunglobulinen in verschiedenen Körpersekreten sowie der bereits vorliegenden Gm-Befunde am Sperma wurden folgende Untersuchungen angestellt: Nachweisversuch des InV-Merkmals in Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma, der Faktoren Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) im Nasensekret und der Faktoren Gm(4), Gm(5) und Gm(21) im Sperma.

B. Eigene Untersuchungen

I. InV(1)-Nachweis in Speichelspuren

1. Fragestellung

Der negative Gm-Befund im Speichel (KRÄMER) erklärt sich aus dem niedrigen IgG-Spiegel in diesem Sekret. Sein hoher IgA-Gehalt läßt den Versuch eines InV(1)-Nachweises aber durchaus sinnvoll erscheinen.

2. Untersuchungsgut

Um eine ausreichende Zahl von InV(1+)-Probanden für die Versuchsreihen zu gewinnen, wurde rund 80 nicht verwandten Personen (beschwerdefreie, d.h. subjektiv gesunde, junge Menschen) durch intravenöse Punktion Blut entnommen, durch dessen Untersuchung die InV(1)-Merkmalträger ermittelt wurden. Weitere Personen mit positivem InV(1)-Befund im Blut wurden im Rahmen der Vaterschaftsuntersuchungen des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Marburg gefunden. Auf diese Weise standen uns trotz der relativen Seltenheit dieses Faktors 18 InV(1+)-Probanden zur Verfügung.

3. InV(1)-Nachweis im Serum (Hämagglutinations-Hemmtest)

3 ml Blut reichten aus, um nach Bildung des Blutkuchens eine für die Bestimmung ausreichende Menge Serum abpipettieren zu können. In diesem bei 4° C gelagerten Serum gelang es noch nach 5 Monaten, den Faktor InV(1) ohne Abschwächung der Reaktion nachzuweisen. Dazu wurde folgende Technik angewandt (PROKOP und UHLENBRUCK, s. Abb. 2):

P h a s e I : Frische Erythrozyten des Typs OD aus frischem Citratblut vom Bluttransfusionsdienst der Universitätskliniken Marburg werden mit inkompletten Antikörpern gegen D, die das Merkmal InV(1) tragen (für die vorliegenden Untersuchungen Anti-D-InV1 Molter), auf folgende Weise "beladen":

a) OD-Erythrozyten werden 3mal in isotonischer NaCl-Lösung gewaschen.

b) 1 Tropfen des Erythrozytensediments wird mit 0,2 ml NaCl-Lösung und 0,1 ml Anti-D-InV(1) vermischt.

c) Dieses Gemisch wird 2 h bei 37° C inkubiert.

d) Danach wird es 4mal in NaCl-Lösung gewaschen und eine 0,5-2%ige Suspension der Erythrozyten in NaCl-Lösung hergestellt.

P h a s e II : Absättigung des Anti-InV(1)-Serums (es wurde Anti-InV1 Molter verwandt) mit Probandenserum:

a) Das Probandenserum wird mit NaCl-Lösung auf 1:10 verdünnt.

b) Vom Anti-InV(1)-Serum wird die Gebrauchsverdünnung (vom Hersteller auf der Packung jeweils empfohlen) mit NaCl-Lösung hergestellt (in unserem Falle 1:10).

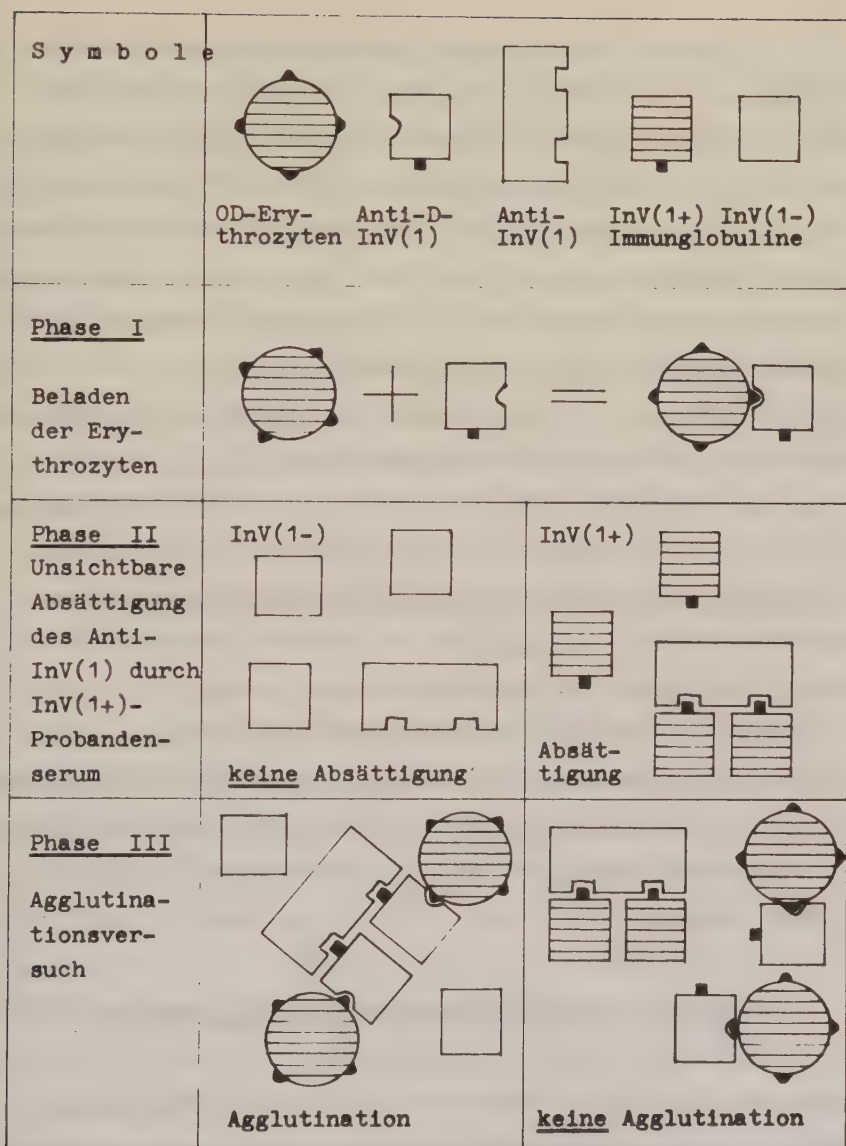


Abb. 2. Hämagglutinations-Hemmtest im Schema (nach BROCTEUR 1962 zitiert aus PROKOP und UHLENBRUCK)

c) Je 1 Tropfen beider Lösungen werden auf einem Plexiglasplättchen nach RACKWITZ (s. Abb. 4) miteinander gemischt und 10 min bei Zimmertemperatur inkubiert. InV(1+)-Probandenserum bindet in dieser Zeit die Antikörper des Anti-InV(1)-Serums.

P h a s e III : Agglutination der Erythrozyten durch nicht-gebundene Antikörper:

a) Zum Reaktionsgemisch wird ein Tropfen der beladenen Erythrozyten-Suspension gegeben und verrührt.

b) Nach etwa 30 min wird nach vorsichtigem Kippen des Plexiglasplättchens auf Agglutination abgelesen.

Eine Agglutination erhält man bei Seren von InV(1-)-Probanden, da sie die zur Agglutination führenden Antikörper gegen die beladenen Erythrozyten nicht binden können. Eine Hemmung ("negativer" Befund = positiv für das gesuchte Merkmal) sieht man entsprechend bei InV(1+)-Probanden.

Als Kontrolle gegenüber falsch-negativen Ergebnissen wird ein Ansatz mit Probandenserum, Erythrozyten-Suspension und NaCl-Lösung, als Kontrolle gegenüber falsch-positiven Ergebnissen ein Ansatz mit Antiserum, Erythrozyten-Suspension und NaCl-Lösung mitgeführt.

4. Prinzip des InV(1)-Nachweises in Sekretspuren

Es wurde das Prinzip einer Methode angewandt, die schon bei KRÄMER und auch bei LEONHARDT für den Nachweis von Gm-Faktoren beschrieben wurde und eine Kombination aus Absättigungsversuch und Hämagglutinations-Hemmtest darstellt:

a) Ein Spureenträger wird mit dem zu untersuchenden Sekret

getränkt und dann getrocknet.

b) Er wird in kleine Stückchen zerschnitten und in einem Reagenzröhrchen mit Antiserum (hier Anti-InV(1)) so versetzt, daß noch ein kleiner Überstand an Antiserum verbleibt. Unter mehrmaligem Umrühren wird dieser Ansatz inkubiert, so daß InV(1+)-Sekretspuren das Antiserum absättigen können.

c) 1 Tropfen des Überstandes wird mit 1 Tropfen der - wie unter B.I.3. beschrieben - beladenen Erythrozyten auf dem Plexiglasplättchen verrührt; nach einiger Zeit unter Kippen des Plättchens Ablesen auf Agglutination; Beurteilung wie bei der Bestimmung im Serum.

5. Vorversuche zum InV(1)-Nachweis in Speichelspuren

Erste orientierende Versuche nach dem oben beschriebenen Prinzip ergaben bei der Speicheluntersuchung einiger Probanden mit positivem InV(1)-Befund im Serum frágliche Hemmungen der Agglutination. Als Arbeitshypothese für weitere Experimente nahmen wir an, daß InV(1+)-Probanden das Merkmal zwar im Speichel aufweisen, aber in einer Konzentration, die sehr strenge Anforderungen an die Versuchsbedingungen, vor allem an die quantitative Zusammensetzung der Reaktionspartner stellt. In jedem Versuchsgang, in dem Versuchsbedingungen variiert wurden, wurden Speichelproben von etwa 5 InV(1+)- und - als negative Kontrollen - Proben von 2 InV(1-)-Probanden untersucht. Als Kriterien für eine Verbesserung der Methode galten: Anzahl der erwartungsgemäß reagierenden Proben und Eindeutigkeit der Ergebnisse. Verbesserungen wurden versucht: a) bei der Speichelentnahme, b) bei der Absättigung und c) bei der Agglutinationsreaktion.

a) Speichelentnahme

Rohen Speichel im Ansatz mit Anti-InV(1) und Testerythrozyten zu verwenden, scheiterte an dessen Viskosität, die in allen Fällen (auch bei den negativen Kontrollen) zu unspezifischen Hemmungen der Agglutination führte.

Deswegen wurde auf die Filterstreifenmethode nach HENNIG und RACKWITZ (ursprünglich angegeben für Untersuchungen im Se/se-System) zurückgegriffen (Abb. 3). Hierbei wird durch Auflegen eines etwa 3 x 8 cm großen Filterpapierstreifens auf die Zunge des Probanden das Papier befeuchtet und kann dann bei Zimmertemperatur trocknen. Im getrockneten Zustand ist die Sekretspur recht widerstandsfähig. Vor der Entnahme regten die Probanden durch Kaubewegungen ihre Speichelsekretion an und sammelten auf diese Weise etwas Sekret im Mund.

Um die im Speichel gelösten Substanzen im Papier anzureichern, wurde das Papier mehrmals bespeichelt, nachdem es zwischendurch immer wieder getrocknet war. Dies erbrachte jedoch keine Verbesserung der Ergebnisse und wurde deswegen aufgegeben.

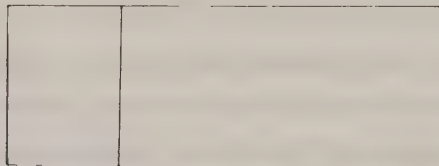


Abb. 3. Filterstreifen nach HENNIG und RACKWITZ. Der größere Teil des Papiers wird mit Sekret befeuchtet und auf dem kleineren Abschnitt der Name des Probanden mit dem Entnahmedatum notiert

b) Absättigung der Antiseren

In den ersten orientierenden Versuchen war das bespeichelte Papier mit dem Anti-InV(1)-Serum in Gebrauchsverdünnung (1:10) inkubiert worden. Auch der Speichel einiger InV(1+)-Probanden hatte hier mit einer Agglutination reagiert, er hatte nicht alle Antikörper binden können. Offenbar spielt die quantitative Beziehung Antigen-Antikörper eine wesentliche Rolle. Um ein Bild über das Ausmaß der Absättigung zu gewinnen, wurde der Überstand des inkubierten Antiserums in einer Verdünnungsreihe (1:10, 1:20, 1:40, 1:80, und 1:160) mit den Testerythrozyten zur Reaktion gebracht (Tab. 2). Die Titerreduktion erreichte bei 2 InV(1+)-Probanden 2 Stufen. Die "kritische Verdünnung" lag bei 1:40 bzw. 1:80. Die Überschneidungen und ungleichen Ergebnisse auch bei den negativen Kontrollen weisen allerdings auf die methodisch bedingte große Fehlerbreite dieses Verfahrens hin: Es ist sehr schwierig, mit solch kleinen Substanzmengen, wie sie sich aus dem Inkubatüberstand von höchstens 3 Tropfen ergeben, eine exakte Verdünnungsreihe herzustellen. Aus diesem Grunde wurde zur Inkubation mit dem speichelhaltigen Papier das Anti-InV(1)-Serum gleich in seiner "kritischen Verdünnungsstufe" (1:40) verwendet und nach Inkubation nicht weiter verdünnt.

Tab. 2. Titerreduktion des Anti-InV(1)-Serums nach Absättigung durch InV(1+)-Speichel. + = Agglutination (+) = fragl. Aggl. - = Hemmung der Aggl. Die Verdünnungsstufen beziehen sich auf das Antiserum nach Inkubation mit dem speichelhaltigen Filterpapier

Proband	Serum	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
1	InV(1+)	+	+	+	(+)	-
2	InV(1+)	+	+	(+)	-	-
3	InV(1+)	+	(+)	-	-	-
4	InV(1+)	+	(+)	-	-	-
5	InV(1+)	+	+	(+)	-	-
19	InV(1-)	+	+	+	+	-
20	InV(1-)	+	+	(+)	(+)	-
Filterpapier		+	+	+	(+)	-

Von der Überlegung ausgehend, daß die Absättigung des Antiserums um so stärker sei, je mehr Spurensubstrat mit diesem inkubiert würde, wurde eine größere Menge Filterpapier verwandt. Es stellte sich aber heraus, daß sich eine Erhöhung der inkubierten Filterpapiermenge auf über etwa 10 cm² nicht lohnt, da dann auch wieder mehr Antiserum benötigt wird, das abgesättigt werden muß. Bei einer Menge unter 10 cm² wirkt sich jedoch die Menge des Überstandes, die zusätzlich abgesättigt werden muß, stärker aus (Tab. 3).

Um mit einem möglichst kleinen Überstand auszukommen, wurden spitz ausgezogene Pipetten verwendet, die es erlaubten, sehr geringe Tropfenvolumina (etwa 0,015 ml) abzupipettieren.

Tab. 3. Inkubierte Papiermenge und das dazu nötige Volumen an Antiserum

Papier/cm ²	Antiserum/Tropfen
3,5	5
7,0	8
14,0	14

Die Inkubationszeit wurde auf 12 h festgesetzt. Allerdings reichten auch schon 3 h aus, wenn das Inkubat mehrmals umgerührt wurde. Die Inkubationstemperatur lag bei 4° C (zur Frage des Temperaturoptimums s. PROKOP und UHLENBRUCK). Zur Ausschaltung von Verdunstungsverlusten wurden die Röhrchen zugestöpselt.

c) Agglutinationsreaktion

In dieser Phase des Versuchs ist der Titer bereits reduziert, und es kommt darauf an, die Reduktion beim Agglutinations-Hemmtest möglichst genau, ablesbar und reproduzierbar darzustellen.

Die Plexiglasplättchen mit Stegen nach RACKWITZ (Abb. 4) machen die Reaktion sehr übersichtlich und erlauben das Verwenden kleinster Substanzmengen. Es empfiehlt sich, diese Plättchen während der Reaktion in eine feuchte Kammer zu legen, um ein Verdunsten der kleinen Substanzmengen zu erschweren.

Von den Testerythrozyten wurde eine stark verdünnte Suspension (etwa 0,5% in NaCl-Lösung) hergestellt (PROKOP und UHLENBRUCK geben 1 bis 4% als übliche Konzentration an). Es ist wichtig, nur frisch beladene Erythrozyten (höchstens 2 Tage bei 4° C gelagert) zu verwenden. Während der Reaktion wurde der Ansatz in einer feuchten Kammer in den Kühlschrank (etwa 4° C) gestellt und erst nach 1 bis 2 h statt nach 30 min unter vorsichtigen Schwenken der Kammer abgelesen. Dies geschah zunächst mit einer starken Lupe. Zusätzlich wurde dann das Ergebnis unter dem Mikroskop (Vergrößerung: 60x) beurteilt. Die Einführung einer Bewertungsskala (Tab. 4) gestattete einen Vergleich der Ergeb-

nisse verschiedener Versuche. Auf das Bewertungssymbol "(+)" = "fragliche Agglutination" konnte trotz mikroskopischer Able-
sung nicht verzichtet werden, da im Zusammenhang mit Rillen
im Plexiglasplättchen oder Staubkörnern kleine unspezifische
Agglutinate auftreten können, die nicht eindeutig von einer
schwachen spezifischen Reaktion zu trennen sind.



Abb. 4. Plexiglasplättchen nach RACKWITZ

Tab. 4. Bewertungsskala der Agglutination

Symbol	Lupenablesung	Mikroskop.Ablesung	Beurteilung
++	starke Aggl.	grobschollige Aggl.	InV(1-)
+	deutliche A.	viele kleine Aggl.	InV(1-)
(+)	fragliche A.	einige kleine Aggl.	InV(1) ?
-	deutl.Hemmung	keine Agglutinate	InV(1+)

6. Hauptversuch zum InV(1)-Nachweis in Speichelspuren

Nach den in den Vorversuchen ermittelten optimalen Versuchsbedingungen wurde der InV(1)-Nachweis an Speichelspuren von 35 Probanden, von denen 18 den InV(1)-Faktor im Serum aufwiesen, vorgenommen. Die bespeichelten Filterstreifen der 17 InV(-)-Probanden dienten als negative Kontrolle, um falsch-positive Ergebnisse mit unspezifischer Hemmung durch Speichelbestandteile auszuschließen. Als weitere Kontrollen wurden mitgeführt: (1) Unbespeicheltes Filterpapier, um gegebenenfalls eine unspezifische Hemmung durch den Spurenträger zu erkennen. (2) Direkter Ansatz des Anti-InV(1)-Serums (1:40) mit den Testerythrozyten. (3) Isotone NaCl-Lösung und Testerythrozyten.

Zum Zeitpunkt der Speichelentnahme hatte keiner der Probanden Anzeichen einer schweren Entzündung im Bereich der Mundhöhle, die zu einer Zunahme der Immunglobuline geführt hätte.

Die Tab. 5 zeigt die Ergebnisse dieses Versuchs: Bei allen InV(1)-Probanden zeigte sich eine starke Agglutination, die ebenso stark war wie bei den Kontrollen mit dem Spurenträger und dem Antiserum. Falsch-positive Befunde (irrtümlicher InV(1)-Nachweis) mit unspezifischer Hemmung durch Speichelsubstanzen oder den Spurenträger wurden also in keinem Falle beobachtet.

Bei 12 der 18 InV(1+)-Probanden gelang der InV(1)-Nachweis im Speichel eindeutig. Man sah in diesen Fällen eine deutliche Hemmung der Agglutination. Bei den 6 anderen reichten die Ergebnisse von "groschollige Agglutination" (Nr. 10) bis "fragliche Agglutination" (Nr. 7 und 14). Im Vergleich zu den InV(1)-Probanden ließ sich jedoch auch bei ihnen (mit Ausnahme der

Tab. 5
Ergebnisse zum InV(1)-
Nachweis in Speichel-
spuren.
Bewertungssymbole s.
Tab. 4

Proband	Geschlecht	Serum	Speichel
1	w	InV(1+)	-
2	w	InV(1+)	-
3	m	InV(1+)	-
4	w	InV(1+)	-
5	m	InV(1+)	-
6	m	InV(1+)	-
7	w	InV(1+)	(+)
8	w	InV(1+)	-
9	m	InV(1+)	-
10	w	InV(1+)	++
11	w	InV(1+)	-
12	m	InV(1+)	+
13	m	InV(1+)	+
14	m	InV(1+)	(+)
15	m	InV(1+)	-
16	w	InV(1+)	+
17	w	InV(1+)	-
18	m	InV(1+)	-
19	m	InV(1-)	++
20	w	InV(1-)	++
21	m	InV(1-)	++
22	m	InV(1-)	++
23	m	InV(1-)	++
24	m	InV(1-)	++
25	w	InV(1-)	++
26	m	InV(1-)	++
27	w	InV(1-)	++
28	w	InV(1-)	++
29	w	InV(1-)	++
30	m	InV(1-)	++
31	m	InV(1-)	++
32	w	InV(1-)	++
33	m	InV(1-)	++
34	m	InV(1-)	++
35	w	InV(1-)	++
Spureenträger			++
Antiserum			++
NaCl			-

Nr. 10) eine (unterschiedlich ausgeprägte) Hemmung feststellen. Bei den Probanden Nr. 13 und 16 könnte die nicht vollständige Agglutinationshemmung dadurch bedingt sein, daß ihre Filterstreifen nur ungenügend mit Sekret benetzt waren.

Es bleibt festzuhalten, daß falsch-negative Ergebnisse (Übersehen eines InV(1)-Trägers) beim InV(1)-Nachweis an Speichelspuren durchaus vorkommen können.

7. Korrelation mit der Ausscheidereigenschaft für ABH-Substanzen

a) Fragestellung

Beim Gm(1)-Nachweis im Sperma beobachteten KLOSE und SCHRAVEN sowie LEONHARDT, daß schwache Ausscheider der ABH-Substanzen auch das Gm(1)-Merkmal im Sperma vermissen ließen, obwohl sie Träger des Gm(1)-Merkmals im Serum waren. Die Autoren nahmen daraufhin eine Korrelation zwischen der Ausscheidung für ABH- und der für Gm-Substanzen an.

Um dieser Frage für den InV(1)-Faktor nachzugehen und in ihr möglicherweise die Ursache für die falsch-negativen Ergebnisse im Hauptversuch zu erkennen, wurde bei 13 InV(1+)-Probanden die Ausscheidung von ABH-Substanzen geprüft.

b) Versuchsanordnung

Die Blutgruppenzugehörigkeit im ABO-System ergab sich bei der Mehrzahl der Probanden aus ihrem Blutspenderpaß. Bei den

übrigen wurde die Blutgruppe in der üblichen Weise an den Erythrozyten und durch Agglutinnachweis im Serum festgestellt. 8 Personen gehörten der Gruppe A₁ an, 5 Probanden der Gruppe O.

Zur Bestimmung der Sekretoreigenschaft für ABH-Substanzen wurden die mit Speichel benetzten Filterstreifen wie üblich im Absättigungsversuch (HENNIG und RACKWITZ) untersucht. 3 cm² des Papiers wurden fein zerschnitten und in einem Reagenzröhrchen soweit mit Antiserum bedeckt, daß noch gerade 2 Tropfen abpipettiert werden konnten. Hierzu wurde bei den Probanden mit der Blutgruppe A₁ Anti-A+B-Serum (Anti-A+B Immun-Testserum Asid mit NaCl-Lösung auf 1:5 verdünnt), bei denen mit der Blutgruppe O Anti-H-Serum (Anti-H(A₂) Asid unverdünnt) verwendet. Nach 12stündiger Inkubation bei etwa 4° C und mehrmaligem Umrühren wurden 2 Tropfen des Überstandes in einer Verdünnungsreihe mit NaCl-Lösung austitriert (1:2, 1:4 usw.). Nach Zugabe von je 1 Tropfen einer 2%igen Suspension frischer, gewaschener Erythrozyten der Blutgruppen A₁ bzw. O, Mischen und Schütteln konnte auf Agglutination abgelesen werden. Nichtausscheider für ABH-Substanzen (se) zeigen bei dieser Versuchsanordnung keine, Ausscheider (Se) eine mindestens 3stufige Titerreduktion gegenüber nichtinkubiertem Antiserum.

c) Ergebnisse

Die Tab. 6 zeigt die Ergebnisse dieses Versuchs im Vergleich mit denen des Hauptversuchs zum InV(1)-Nachweis im Speichel. Die 4 festgestellten Nichtausscheider für ABH-Substanzen verhielten sich unterschiedlich hinsichtlich des InV(1)-Nachweises:

Die Probanden Nr. 5 und 9 wiesen einen eindeutig positiven InV(1)-Befund auf, während bei den Probanden Nr. 12 und 13 der InV(1)-Nachweis nicht ganz eindeutig war. Andererseits schied der Proband, der in Bezug auf den InV(1)-Nachweis am schlechtesten abgeschnitten hatte, ABH-Substanz aus (Nr. 10).

Diese Befunde sprechen also gegen einen Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von ABH- und InV(1)-Substanzen.

Tab. 6. InV(1)-Ausscheidung und Sekretorstatus im ABO-System. Bewertungssymbole 4. Se = Ausscheider für ABH
se = Nichtausscheider für ABH

Proband	Geschl.	Blutgruppen	InV(1) im Speichel	Sekretorstatus
1	w	InV(1+), A ₁	-	Se
2	w	InV(1+), A ₁	-	Se
3	m	InV(1+), A ₁	-	Se
4	w	InV(1+), O ₁	-	Se
5	m	InV(1+), A ₁	-	<u>se</u>
6	m	InV(1+), O ₁	-	<u>se</u>
7	w	InV(1+), A ₁	(+)	Se
8	w	InV(1+), O ₁	-	Se
9	m	InV(1+), A ₁	-	<u>se</u>
10	w	InV(1+), A ₁	++	<u>se</u>
11	w	InV(1+), O ₁	-	Se
12	m	InV(1+), O	+	<u>se</u>
13	m	InV(1+), A ₁	+	<u>se</u>

8. Quantitative Nachweisgrenze des InV(1)-Faktors

a) Fragestellung

Um einen Hinweis auf die Empfindlichkeit der in den Vorversuchen entwickelte Methode zum InV(1)-Nachweis zu erhalten, wurde der folgende Versuch gemacht:

b) Versuchsanordnung

Zunächst wurden verschiedene Verdünnungsstufen der Seren von 6 InV(1+)-Probanden hergestellt (1:100, 1:200, 1:400, 1:800 und 1:1600 in NaCl-Lösung). Mit diesen verdünnten Seren wurden dann die bei der Speichelentnahme verwandten Filterstreifen getränkt. Bei 6 Tropfen Serum pro 10 cm² Filterpapier erreichte dessen Durchfeuchtungsgrad ungefähr den bei der Speichelentnahme. An den getrockneten Filterstreifen wurde der InV(1)-Nachweis wie beim Speichel versucht.

c) Ergebnisse und Auswertung

Die Tab. 7 zeigt, daß bei den bis auf 1:200 verdünnten Seren der InV(1)-Nachweis in 5 von 6 Fällen sicher zu führen war, während dies bei der Verdünnungsstufe 1:800 in keinem Fall gelang.

Tab. 7. Versuch des InV(1)-Nachweises an Filterpapier, das mit verschieden stark verdünnten InV(1+)-Seren getränkt wurde. Bewertungssymbole s. Tab. 4

Proband	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	Papier-Kontrolle
1	-	(+)	++	++	++	++
2	-	-	(+)	++	++	++
3	-	-	-	+	++	++
4	-	-	+	++	++	++
5	-	-	-	+	++	++
8	-	-	+	++	++	++

Wenn man annimmt, daß bei gegebener Qualität des Antiserums der InV(1)-Nachweis im Speichel hauptsächlich von der dort vorliegenden Immunglobulin-Konzentration abhängig ist, und unter der Voraussetzung, daß sich das InV(1)-Merkmal an den Immunglobulinen aller Klassen gleich gut nachweisen läßt (im Serum überwiegt das IgG, im Speichel das IgA), folgt aus diesem Versuch, daß der InV(1)-Nachweis im Speichel gelingen kann, wenn dort eine Gesamtimmunglobulin-Konzentration vorhanden ist, die mindestens 1/200 bis 1/800 der Serumkonzentration beträgt. Bei PROKOP und UHLENBRUCK finden sich ähnliche Größenordnungen für die Empfindlichkeit des Nachweises von Gm(1) und Gm(4) im Serum. Hier wurde allerdings der bei der Serumbestimmung übliche Hämagglutinations-Hemmtest angewandt. Die in der vorliegenden Arbeit verwandte Methode scheint also genauso empfindlich wie dieser zu sein.

Da die Immunglobulin-Konzentration im Serum bei den 6 Probanden nicht quantitativ bestimmt wurde, ist es natürlich nicht möglich, die Nachweisgrenze für InV(1) in mg Immunglobulin/100 ml auszurechnen. Für eine ungefähre Schätzung ist es aber erlaubt, bei diesem Kollektiv von 6 gesunden Probanden (Normalpersonen) einen Durchschnittsspiegel von etwa 1500 mg/100 ml anzunehmen.

Danach läge die Nachweisgrenze bei 2 bis 7 mg/100 ml. In der abschließenden Diskussion wird auf diesen Fragenkomplex noch weiter eingegangen werden.

9. Stabilität der InV(1)-Substanz in Speichelspuren

Wiederholt war von verschiedenen Autoren auf die große Stabilität von Gm-Substanzen hingewiesen worden (Zusammenstellung bei PROKOP und UHLENBRUCK). Der Untersuchung dieser Frage für den InV(1)-Faktor diente der folgende Versuch: 6 InV(1+)-Probanden benetzten je 4 Filterstreifen mit Speichel, die darauf bei Zimmertemperatur in einer trockenen Schachtel gelagert wurden. Sofort, nach 1, 3 und 5 Monaten wurde an ihnen der InV(1)-Nachweis versucht.

Die Tab. 8 zeigt, daß auch nach 5monatiger Lagerung noch keine Einschränkung der Nachweisbarkeit gegenüber der sofortigen Untersuchung zu beobachten war.

Tab. 8. InV(1)-Nachweis an Speichelspuren verschiedenen Alters. Bewertungssymbole s. Tab. 4.

Proband	sofort	1 Monat	3 Monate	5 Monate
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	(+)	(+)	(+)	-
6	-	-	-	-

10. Nachweis des InV(1)-Merkmals an Zigarettentummeln

Dieser Versuch sollte prüfen, ob der InV(1)-Nachweis an Speichelspuren auch unter den Bedingungen der rechtsmedizinischen Praxis möglich sei. Stummel gerauchter Zigaretten werden nämlich in einigen Kriminalfällen zur Untersuchung eingeschickt, um Hinweise auf Personen zu gewinnen, die sie an einem Tatort hinterlassen haben.

3 InV(1+)- und 2 InV(1-)-Probanden wurden gebeten, mehrere Filterzigaretten zu rauchen. Es zeigte sich, daß beim Rauchen in erster Linie das vordere Filterdrittel mit Speichel benetzt wird. Der InV(1)-Nachweis gelingt aber am ehesten, wenn der Quotient aus Spurensubstrat- und Spurenrägermenge möglichst groß ist, da nur das Spurensubstrat absättigt. Wegen des nötigen Überstandes hängt aber die Menge des abzusättigenden Antiserums von der Größe des Spurenrägers ab. Deshalb wurden die Zigaretten auf folgende Weise präpariert: Das vordere Filterdrittel wurde abgeschnitten, dessen Papier längs aufgeschnitten und möglichst vollständig von der anhaftenden Filterwatte befreit. Nur das Papier wurde verwendet. Ein Ansatz erforderte 3 solcher Papierstückchen (3 Zigaretten) je Proband. Im übrigen wurde der Versuch wie der InV(1)-Nachweis an den bespeichelten Filterstreifen vorgenommen.

Tab. 9 zeigt, daß der InV(1)-Nachweis in einem Falle (Nr. 5)) eindeutig gelungen ist. Aber auch die anderen beiden InV(1+)-Probanden zeigten eine gewisse Abschwächung der Agglutination gegenüber den InV(1-)-Kontrollen. Unspezifische Hemmungen durch Bestandteile des Zigarettenfilters konnten aufgrund der starken

Agglutination dieser Kontrollen ausgeschlossen werden.

Tab. 9. InV(1)-Nachweis an Zigarettenstummeln. Bewertungssymbole s. Tab. 4.

Proband	Serum	Zigaretten
2	InV(1+)	(+)
4	InV(1+)	(+)
5	InV(1+)	-
19	InV(1-)	++
20	InV(1-)	++
Spureenträger		++
Antiserum		++

11. Versuch des InV(1)-Nachweises an Briefmarken
und Briefumschlägen

a) Fragestellung

Nach Beobachtungen in Postämtern verwenden über 90% aller Personen den eigenen Speichel zum Aufkleben der Briefmarken und Schließen der Umschläge (GRODECKA). Bei anonymen Briefen z. B. kann versucht werden, durch den Nachweis ausgeschiedener Blutgruppensubstanzen die Speichelspur zu typisieren. Die in großen Mengen im Speichel vorkommenden ABH-Substanzen erlauben ihren Nachweis schon an einem kleinen Stück einer Briefmarke. Dieser Nachweis geschieht nach der klassischen Absättigungsmethode (s. B.I.7.b.). Kleine Stückchen des Spurenrägers (etwa 2 cm²) werden mit Anti-H- oder Anti-A+B-Serum inkubiert, was

zu einer Titerreduktion der für die jeweils ausgeschiedenen Blutgruppensubstanzen spezifischen Antiseren führt. GRODECKA prüfte isoliert den Einfluß von G u m m i a r a b i c u m auf diesen Nachweis und fand, daß die Gummierung der Briefmarken keinen Einfluß auf die Agglutinationsfähigkeit der Erythrozyten hatte.

Veröffentlichungen über den InV(1)- Nachweis an Briefmarken oder Umschlägen liegen bisher nicht vor. Aufgrund des sogar an Zigarettenstummeln gelungenen Nachweises erschien ein Versuch erfolgversprechend.

b) Versuchsanordnung

3 InV(1+)- und 2 InV(1-)-Probanden bekamen je einen Briefumschlag, den sie mit ihrem Speichel befeuchteten und dann schlossen, sowie eine Briefmarke, die sie auf diese Umschläge klebten. Aus diesen "Briefen" wurden dann die Briefmarken und gummierten Randstreifen herausgeschnitten und je 4 cm² davon im Absättigungsversuch mit Anti-InV(1)-Serum untersucht.

c) Auswertung

In Tab. 10 sind die Ergebnisse dieses Versuchs dargestellt. Bei allen Probanden sowie der Spurenrägerkontrolle zeigte sich eine vollständige Hemmung der Agglutination, woraus auf eine durch den Spurenräger verursachte unspezifische Hemmung geschlossen werden muß. Es fiel auf, daß der Überstand des Inkubats gelblich-schmutzig war. Die Gummierung schien sich gelöst

zu haben und war möglicherweise verantwortlich für die falsch-positiven Ergebnisse.

Dieser Befund stand im Gegensatz zu dem beschriebenen Nachweis von ABH-Substanzen an Briefmarken und den Untersuchungen von GRODECKA über den Einfluß von G u m m i a r a b i c u m auf diese Bestimmung. Um einen methodischen Fehler auszuschließen, wurde deshalb der ABH-Nachweis an Briefmarken und Umschlägen bei denselben Probanden nach der üblichen Methode versucht. Dies gelang in allen Fällen sicher. Es ergibt sich also der interessante Befund, daß an derselben Briefmarke der InV(1)-Nachweis zu falsch-positiven Ergebnissen führt, während ABH-Substanzen sicher nachgewiesen werden können.

Tab. 10. Versuch des InV(1)-Nachweises an Briefmarken und Umschlägen. Bewertungssymbole s. Tab. 4

Proband	Serum	Briefmarke	Umschlag
2	InV(1+)	-	-
3	InV(1+)	-	-
5	InV(1+)	-	-
19	InV(1-)	-	-
20	InV(1-)	-	-
Spurenräger		-	-
Antiserum		++	++

II. Versuch des InV(1)-Nachweises an Schweißspuren

1. Fragestellung

Schweißgetränkte Kleidungsstücke sind in vielen Fällen Träger von Blut- und Sekretspuren. Bei der Typisierung von Blutspuren könnte der Schweiß zu einer Fehlbestimmung führen, wenn er in ausreichenden Mengen die entsprechenden Blut- oder Serumgruppen enthält. Da, wie eingangs erwähnt, das Vorkommen von Immunglobulinen im Schweiß beschrieben ist, stellt sich diese Frage auch für das Gm- und InV-System. Mindestens für den InV(1)-Faktor wurde zu klären versucht, ob er im Schweiß nachzuweisen ist.

2. Versuchsanordnung

Wegen der Schwierigkeit der Schweißgewinnung wurde dieser Versuch auf 3 InV(1+)-Probanden, die sich im Speichel als gute InV(1)-Ausscheider erwiesen hatten, und 3 InV(1-)-Kontrollpersonen beschränkt. Nach Provokation der Schweißsekretion durch körperliche Anstrengung oder Verweilen in einem warmen Raum wurden die Schweißperlen mit den auch zur Speichelentnahme benutzten Filterstreifen abgetupft. An 10 cm² des getrockneten Papiers wurde - wie beim Speichel - der InV(1)-Nachweis versucht.

3. Ergebnisse

Tab. 11 zeigt die Ergebnisse dieses Versuchs. Eine eindeutige Hemmung und damit ein positiver InV(1)-Nachweis fand sich

bei keiner Probe. Eine leichte Hemmung war aber bei 2 InV(1+)- und 1 Inv(1-)-Probanden zu beobachten. Schweiß scheint also als Spurensupstrat - unabhängig vom InV(1)-Status - in manchen Fällen zu einer unspezifischen Hemmung zu führen. Es fiel auf, daß gerade diese Probanden (Nr. 2, 3 und 20) eine geringe Schweißproduktion hatten, was dazu verleitete, den Schweiß nicht von der Körperoberfläche abzutupfen, sondern ihn abzuwischen. Dadurch enthielt das Papier Schmutz- und wohl auch Epithelspuren.

Tab. 11. Versuch des InV(1)-Nachweises in Schweißspuren.
Bewertungssymbole s. Tab. 4

Proband	Serum	Schweiß
2	InV(1+)	+
3	InV(1+)	+
5	InV(1+)	++
19	InV(1-)	++
20	InV(1-)	+
35	InV(1-)	++
Spureenträger		++
Antiserum		++

III. Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(1), Gm(2),
Gm(4), Gm(5) und Gm(21) an Nasensekretspuren

1. Fragestellung

Spuren von Nasensekret dürften für eine Typisierung recht gut geeignet sein. Sie finden sich schon normalerweise - und nicht nur unter Versuchsbedingungen - ziemlich konzentriert auf relativ einheitlichen Spurentägern, nämlich Stoff- oder Papier- taschentüchern. Mit der Ausscheidung von Immunglobulinen in diesem Sekret ist die Voraussetzung für den Nachweis von Faktoren des Gm- und InV-Systems gegeben. Versucht wurde er hinsichtlich der Faktoren InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21), für deren Bestimmung Antiseren im Handel sind.

2. Versuchsanordnung

Der Versuchsgang entsprach dem zur Typisierung der Speichelspuren. Er wurde mit einer Gruppe von 10 Probanden vorgenommen, bei denen zusätzlich zum InV(1)-Merkmal die Faktoren Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) im Serum bestimmt wurden.

Zur Absättigung wurde das Anti-InV(1)-Serum in der "kritischen Verdünnungsstufe" (1:40), die bei der Untersuchung der Speichelspuren verwandt worden war, mit den Nasensekretspuren inkubiert. Für die Gm-Faktoren wurde diese "kritische Verdünnungsstufe" in einer Verdünnungsreihe ermittelt: Diejenige Verdünnung, in der die Antiseren noch gerade deutlich die Testerythrozyten zur Agglutination brachten, wurde genommen. Im ein-

zeln wurden folgende Antiseren verwendet:

InV(1)-Nachweis: Anti-D-InV(1) und Anti-InV(1)(1:40) Molter

Gm(1)-Nachweis: Anti-D-Gm(1) und Anti-Gm(1)(1:4) Schwab

Gm(2)-Nachweis: Anti-D-Gm(2) und Anti-Gm(2)(1:10) Asid

Gm(4)-Nachweis: Anti-D-Gm(4) und Anti-Gm(4)(1:4) Molter

Gm(5)-Nachweis: Anti-D-Gm(5) und Anti-Gm(5)(1:4) SRK-Bern

Gm(21)-Nachweis: Anti-D-Gm(21) und Anti-Gm(21)(1:10) SRK-Bern

Als Spureenträger für das Nasensekret dienten Papiertaschentücher. Das Sekret wurde durch Aufenthalt in kalter Luft oder durch Schneuzen provoziert und in den Taschentüchern aufgefangen. Die Kennzeichnung der benetzten Stellen erleichterte ihr Wiederauffinden nach der Trocknung. Um das Verhältnis Spurenmenge/Spureenträgergröße möglichst günstig zu machen, wurde die oberste, am stärksten benetzte Schicht des aus 4 Lagen bestehenden Papiertaschentuches vorsichtig abgezogen. Die gekennzeichneten Flächen wurden ausgeschnitten und 10 cm² davon für jeden Ansatz verwandt.

3. Ergebnisse

In Tab. 12 sind die Ergebnisse dieses Versuchs dargestellt. Die Beurteilung geschah auch bei den Gm-Faktoren nach der eingeführten Bewertungsskala (Tab. 4).

Der InV(1)-Nachweis gelang in all den Fällen, in denen aufgrund des Serumbefundes ein solcher zu erwarten war. Alle InV(1+)-Nasensekretproben zeigten eine deutliche Hemmung der Agglutination im Gegensatz zu den InV(1-)-Kontrollen.

Nicht so deutlich dagegen waren die Ergebnisse beim Nachweis

der Gm-Faktoren. Nicht alle Proben von Merkmalsträgern zeigten eine eindeutige Hemmung, so daß falsch-negative Resultate möglich sind.

Falsch-positive Ergebnisse hingegen wurden in keinem Fall gesehen. Auch geringe unspezifische Hemmungen waren nicht zu beobachten. Bei den Faktoren Gm(4) und Gm(5) konnten allerdings falsch-positive Ergebnisse schon deswegen nicht auftreten, weil alle Probanden diese Faktoren im Serum aufwiesen.

Tab. 12. Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21) in Nasensekretspuren. Bewertungssymbole s. Tab. 4

Proband	Serum	Nasensekret					
		InV(1)	Gm(1)	Gm(2)	Gm(4)	Gm(5)	Gm(21)
1	InV(1+)Gm(1-2-4+5+21-)	-	+	++	-	-	++
2	InV(1+)Gm(1-2-4+5+21-)	-	+	++	-	-	++
3	InV(1+)Gm(1+2+4+5+21+)	-	+	+	(+)	+	(+)
4	InV(1+)Gm(1-2-4+5+21-)	-	+	++	-	-	++
5	InV(1+)Gm(1-2-4+5+21-)	-	+	++	(+)	(+)	++
19	InV(1-)Gm(1+2-4+5+21+)	++	-	++	-	-	-
20	InV(1-)Gm(1+2-4+5+21-)	++	(+)	++	-	(+)	++
24	InV(1-)Gm(1-2-4+5+21-)	++	+	++	(+)	(+)	++
25	InV(1-)Gm(1-2-4+5+21-)	++	+	++	-	-	++
26	InV(1-)Gm(1+2-4+5+21+)	++	-	++	-	-	(+)
Spureenträger		++	+	++	+	+	++
Antiserum		++	+	++	+	+	++

IV. Nachweis der Faktoren InV(1), Gm(4), Gm(5)
und Gm(21) an Spermaspuren

1. Fragestellung

Die Typisierung von Spermaspuren kann bei Vergewaltigungen und auch in Ehescheidungssachen Bedeutung erlangen. Ferner stellt sich die Frage, ob gleichzeitiges Vorliegen von Blut- und Spermaspuren zu einer Beeinflussung der Serumgruppennachweise führen kann. Da Gm(1) - wie eingangs geschildert - bereits im Sperma nachgewiesen wurde, erschien der Versuch eines InV(1)-, Gm(4)-, Gm(5)- und Gm(21)-Nachweises ebenfalls erfolgversprechend. (Auf die Untersuchung von Gm(2) wurde u. a. aus Kostengründen verzichtet, da Gm(2) fast nie ohne Gm(1) vorkommt, so daß sich die Erfäßbarkeit dieses Merkmals aus der bereits bekannten Nachweisbarkeit von Gm(1) ergibt.)

2. Versuchsanordnung

Der größte Teil der Spermaproben stammte von Patienten mit einer Oligospermie, die im Rahmen einer Fertilitätsuntersuchung in der Hautklinik der Universität Marburg festgestellt wurde.¹⁾

Mit diesen Spermaproben wurden Baumwollappen getränkt, die nach dem Trocknen bis zur Untersuchung im Kühlschrank gelagert wurden. Jeder Ansatz erforderte etwa 4 cm² dieser Läppchen (fein

1) Herrn Akademischen Oberrat Dr. U. Schulze bin ich für die Überlassung der Sperma- und Blutproben zu Dank verpflichtet.

zerschnitten). Im übrigen entsprachen Material und Methoden den bisher beschriebenen.

Der InV(1)-Nachweis wurde an 22 Spermaspuren im Blindversuch unternommen. Erst später wurde zur Kontrolle der InV(1)-Status im Serum durch einen anderen Untersucher ermittelt, dem die Spermabefunde nicht bekannt waren.

Der Nachweis der Faktoren Gm(4), Gm(5) und Gm(21) wurde an Spermaspuren von 7 Patienten versucht, deren Gm-Status vorher bestimmt wurde.

3. Ergebnisse

Tab. 13 zeigt die Ergebnisse des Blindversuchs zum InV(1)-Nachweis. Bei 4 Proben war eine deutliche Hemmung der Agglutination zu erkennen. Aus organisatorischen Gründen standen nicht von allen Patienten Blutproben zur Verfügung. Die im Blindversuch untersuchten Seren bestätigten aber ohne Ausnahme den Spermabefund.

Die Wahrscheinlichkeit, daß InV(1+)-Proben übersehen wurden, ist nicht sehr groß, da aufgrund der relativen Häufigkeit des InV(1)-Merkmals (12-16%) die Zahl von 4 InV(1+)- bei 22 untersuchten Proben - mindestens nicht zu niedrig ist. Ferner spricht die Eindeutigkeit der Ergebnisse eher dagegen.

Obwohl - wie schon beim Schweiß - auch bei einigen InV(1)-Spermaproben geringe unspezifische Hemmungen zu sehen waren, waren diese nie so ausgeprägt, daß sie zu falsch-positiven Ergebnissen führten. Die Ursache dieses Befundes könnte in der etwas erhöhten Viskosität des Inkubatüberstandes liegen,

Tab. 13. InV(1)-Nachweis an Spermaspuren. Bewertungssymbole
s. Tab. 4. n.u. = nicht untersucht

Proband	Serum	Sperma
101	n.u.	-
102	InV(1-)	++
103	n.u.	++
104	n.u.	+
105	n.u.	++
106	n.u.	+
107	n.u.	+
108	n.u.	++
109	InV(1+)	-
110	n.u.	++
111	n.u.	+
112	n.u.	+
113	n.u.	+
114	InV(1+)	-
115	n.u.	+
116	n.u.	+
117	n.u.	++
118	n.u.	++
119	InV(1-)	++
120	InV(1-)	++
121	InV(1+)	-
122	InV(1-)	+
Spureenträger		++
Antiserum		++

der schlierig-schleimig aussah. Der Spureenträger jedenfalls zeigte keine Eigenabsorption, wie die Kontrolle bewies.

Die Ergebnisse aus dem Nachweisversuch der Faktoren Gm(4), Gm(5) und Gm(21) sind in Tab. 14 dargestellt. Bei den Faktoren Gm(4) und Gm(5) zeigte sich erwartungsgemäß eine deutliche Hemmung bei allen Proben. Leider war kein Gm(4-5-)-Patient unter den Spermaspendern, der als negative Kontrolle hätte dienen können. Auch das Gm(21)-Merkmal ließ sich bei seinen Trägern nachweisen, obwohl auch Gm(21-)-Proben eine geringe Hem-

mung aufwiesen und dadurch die Beurteilung erschwerten.

Die Stabilität von Gm- und InV-Substanzen scheint auch in der Spermaspur gut zu sein. Jedenfalls ergab ein Wiederholungsversuch an Sperma-Läppchen, die 2 Monate im Kühlschrank gelegen hatten, die gleichen Ergebnisse wie bei der ersten Untersuchung.

Tab. 14. Nachweis der Faktoren Gm(4), Gm(5) und Gm(21) in Spermaspuren. Bewertungssymbole s. Tab. 4

Proband	Serum	Sperma		
		Gm(4)	Gm(5)	Gm(21)
102	Gm(4+5+21+)	-	-	-
109	Gm(4+5+21+)	-	(+)	(+)
114	Gm(4+5+21-)	-	-	+
119	Gm(4+5+21-)	-	-	+
120	Gm(4+5+21-)	-	-	+
121	Gm(4+5+21+)	-	-	-
122	Gm(4+5+21-)	-	-	++
Spureenträger		+	+	++
Antiserum		+	+	++

C. Diskussion

Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit war die Feststellung, daß eine Voraussetzung für den Nachweis der Gm- und InV-Faktoren in Körpersekreten deren ausreichender Gehalt an entsprechenden Immunglobulinen sei. Für die InV-Faktoren sind dies die kappa-Ketten tragenden Immunglobuline aller Klassen, für die Gm-Faktoren die jeweiligen Unterklassen der IgG-Klasse.

Die für den Nachweis angewandte Methode wurde durch Vorversuche in ihren Einzelheiten festgelegt. Eine Schätzung ihrer Empfindlichkeit für den InV(1)-Nachweis ergab nach Versuchen an Spuren verdünnten Serums, daß mit einem Nachweis dieses Faktors zu rechnen ist, wenn die Gesamtimmunglobulin-Konzentration in dem jeweiligen Sekret in der Größenordnung von 5 mg/100 ml liegt, entsprechend einer Serumverdünnung 1:200 bis 1:800.

Tab. 15 gibt in kurzer Form eine Übersicht über die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und - im Vergleich dazu - die von anderen Autoren angegebenen Immunglobulin-Konzentrationen in den entsprechenden Sekreten. Für den InV(1)-Nachweis wurde die vermutete Korrelation zwischen dessen Gelingen und der Höhe des Immunglobulinspiegels in den betreffenden Sekreten ganz gut bestätigt. Den sicheren Nachweisen in Nasensekret und Sperma entsprechen die dort hohen Immunglobulinkonzentrationen; ebenso wird der negative Befund im Schweiß durch dessen geringen Immunglobulin-Gehalt erklärt. Für den InV(1)-Nachweis im Speichel scheint die angewandte Methode in ihrem Grenzbereich zu

liegen, worauf das Mißlingen des Nachweises in einigen Fällen zurückzuführen ist.

Der InV(1)-Nachweis im Speichel läßt sich durch dessen relativ hohen IgA-Gehalt verstehen, während im Sperma dessen hoher IgG-Spiegel den Nachweis gestattet haben dürfte: D. h. unter den Bedingungen der vorliegenden Arbeit läßt sich das InV(1)-Merkmal - entsprechend seiner Lokalisation - erwartungsgemäß an beiden Immunglobulinklassen nachweisen.

Als Ursache für falsch-negative Ergebnisse, d.h. nichtgelungene Nachweise, müssen zunächst individuell und anders bedingte Abweichungen von den in der Tab. 15 angegebenen Werten für die Immunglobulinkonzentrationen diskutiert werden:

Für den Speichel fanden BRANDTZAEG et al. bei einigen Probanden - als Ausdruck der individuellen Schwankungsbreite - weniger als 50% des ermittelten Durchschnittswertes. Ähnliche Unterschiede beobachteten sie bei Messungen an einem Probanden zu verschiedenen Zeiten. Ferner sank der Immunglobulinspiegel im Speichel bei hoher Sekretionsrate, d.h. nach Stimulierung, ab. Wichtig ist auch die Herkunft des Speichels, da die Auto-ren Unterschiede zwischen Parotis-, Submaxillaris- und Gesamtspeichel, ja sogar zwischen Speichel von rechter und linker Parotis am selben Probanden feststellten. Bei Entzündungen (Periodontitis) wurde dagegen eine starke Vermehrung der Immunglobuline gemessen.

Für das Sperma geben BLENK et al. ebenfalls starke individuelle Abweichungen vom Mittelwert an. Bei akuter Adnexitis und Epididymitis stiegen die Immunglobulin-Konzentrationen auf mehr als das 10fache der Normalwerte an.

Während das IgA der Drüsensekrete größtenteils lokal synthetisiert wird, gelangt das IgG vornehmlich durch Transsudation aus dem Serum in die Sekrete (TOMASI sowie RÜMKE). Unterschiede im Serumimmunglobulinspiegel individueller Natur (Schwankungsbreite bei CEGLA), altersbedingte Differenzen (Werte für Kinder bei SCHULZ et al.) sowie eine Verminderung der Immunglobulinwerte nach Operationen (ALIEFF) können - um nur einige Beispiele zu nennen - ebenfalls zu einer geringeren Immunglobulin-Konzentration in den Sekreten führen. Ferner sei auf die für viele Krankheiten typischen und sogar diagnostisch verwertbaren (KIENHOLZ et al.) Veränderungen in der quantitativen Zusammensetzung der Immunglobuline hingewiesen.

Während die meisten angeborenen und erworbenen Immundefekte mit starkem Immunglobulinmangel vorwiegend allgemeinmedizinisches Interesse beanspruchen, muß der auch bei Normalpersonen relativ häufige (über 1%) selektive IgA-Mangel (UNDERDOWN und AMBRUS et al. sowie CSER et al.) durchaus als mögliche Ursache eines falsch-negativen Befundes beim InV(1)-Nachweis im Speichel angeführt werden.

Alle bisherigen Betrachtungen gingen von einer definitiven Empfindlichkeit der angewandten Methode aus. Deren Sensibilität hängt aber sicherlich auch von der Qualität und Eignung der zur Verfügung stehenden Antiseren ab, ein Hinweis, der sich auch bei PROKOP und UHLENBRUCK findet. Die nicht immer eindeutigen Ergebnisse beim Nachweis der Gm-Faktoren könnten durch diesen Sachverhalt mitbedingt sein. Eine Deutung dieser Ergebnisse wird aber auch durch die kleine Zahl der Probanden bei diesen Versuchen erschwert. Jedenfalls gelang auch LEONHARDT der

Gm(1)-Nachweis nicht bei allen Spermaproben von Gm(1+)-Probanden. Ferner dürften aber auch für die einzelnen Gm-Faktoren Unterschiede in Bezug auf ihre Nachweisbarkeit in Körpersekreten bestehen. Die auf der IgG₁-Unterklasse lokalisierten Faktoren Gm(1), Gm(2) und Gm(4) dürften besser nachzuweisen sein als die in der Unterklasse IgG₃ zu findenden Faktoren Gm(5) und Gm(21), da das IgG₁ ca. 70%, das IgG₃ aber nur ca. 8% der gesamten IgG-Fraktion ausmacht (NATVIG und KUNKEL).

KLOSE und SCHRAVEN sowie LEONHARDT hatten für den Nachweis von Gm-Faktoren im Sperma eine Korrelation zur Fähigkeit des Spenders, ABH-Substanzen auszuschcheiden (ca. 20% sind Nichtausscheider), angenommen. Dies wurde am Beispiel des InV(1)-Nachweises im Speichel erwartungsgemäß widerlegt, indem bei 2 Nichtausscheidern InV(1) nachgewiesen wurde.

Für das Sekret-IgA ist bekannt, daß es strukturelle Besonderheiten gegenüber dem Serum-IgA hat. Sein größter Teil liegt als Dimer aus 2 IgA-Monomeren vor. Zusätzlich trägt es eine "sekretorische Komponente" (SC), ein Glykoprotein, das über Disulfidbrücken an die H-Ketten (alpha-Ketten) des IgA gebunden ist. Offensichtlich verhindern diese strukturellen Besonderheiten aber den InV(1)-Nachweis im Speichel nicht. Die Struktur der den InV(1)-Faktor tragenden kappa-Kette scheint also weitgehend mit der des Serum-IgA übereinzustimmen.

Die große Stabilität von Faktoren des Gm- und InV-Systems in Blutspuren war in der Einleitung erwähnt worden. Auch in der Trockenspur von Sekreten scheint die Struktur der Immunglobuline lange stabil zu bleiben. PROKOP et al. führen den relativ hohen Kohlenhydratgehalt des Fc-Fragments im IgG als mögliche

Ursache der hohen Lagerungs- und Hitzestabilität des dort lokalisierten Gm(1)-Faktors an. Die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesene große Lagerungsstabilität des InV(1)-Faktors im Speichel (mindestens 5 Monate) und im Sperma (mindestens 2 Monate) spricht dafür, daß auch andere Teile der Immunglobulinmoleküle recht stabil sind.

Bisher sind mögliche Ursachen falsch-negativer Ergebnisse diskutiert worden. Das Fehlen falsch-positiver Befunde ist aber noch eher eine Voraussetzung für die Anwendbarkeit eines Faktorennachweises bei der forensischen Spurentypisierung. Eine solche unspezifische Hemmung beim Nachweis von Gm- und InV-Faktoren kann durch den Spureenträger, aber auch durch Substanzen der Spur selbst bedingt sein. Sie braucht durchaus nicht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion zu beruhen, sondern kann auch andere Ursachen haben (Adsorption des Antiserums an den Spureenträger, hohe Viskosität des Ansatzes).

MAYER rechnet nach eigenen Befunden und denen anderer Autoren bei Spurenuntersuchungen im ABO-System in etwa 10% mit - allerdings schwachen - Eigenabsorptionen durch verschiedene Spureenträger. Bei KIJEWski und v. MÜLMAN findet sich der überraschende Hinweis auf falsch-positive Ergebnisse beim Nachweis der Faktoren Gm(1), Gm(2) und InV(1) an Blutspuren im Erdboden, während der ABO-Nachweis dort gelang. Dieser Befund entspricht den eigenen Untersuchungen zur Typisierung von Speichelspuren an Briefmarken und den gummierten Randstreifen von Briefumschlägen. Eine besonders interessante Entdeckung machten BLANC et al., die nachwiesen, daß das Insektizid O r t h o c h l o - r o p h e n o l das Anti-Gm(1)-Serum sehr gut absättigt, wäh-

rend die Seren gegen die Faktoren Gm(2) und Gm(5) davon nicht betroffen sind.

Geringfügige unspezifische Hemmungen durch Spurensubstanzen wurden bei den eigenen Versuchen an Spuren von Schweiß und Sperma beobachtet. Beim Schweiß könnten Schmutz- oder Epithelschuppenbeimengungen dafür verantwortlich sein, beim Sperma die Viskosität des Inkubats. Da diese unspezifischen Hemmungen aber nur schwach ausgeprägt waren, störten sie den Nachweis nicht.

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist demnach in der forensischen Praxis die Möglichkeit gegeben, Sekretspuren durch den Nachweis von Gm- und InV-Substanzen näher zu typisieren. Besonders lohnend ist der Versuch des InV(1)-Nachweises an Spermaflecken und Taschentüchern mit Nasensekret. Erforderlich sind aber äußerste Genauigkeit und Erfahrung bei der Untersuchung. Als Vergleichskontrollen müssen Ansätze mit dem unbefleckten Spurenträger und mit (für den untersuchten Faktor) positiven und negativen Sekretspuren mitgeführt werden. Zu verwer-
ten sind nur positive Ergebnisse, d.h. eindeutig gelungene Nach-
weise.

Nach den vorliegenden Untersuchungen hat Schweiß bei Überlagerung von Blutspuren keinen Einfluß, während Speichel, Nasensekret und Sperma an den Gm- und InV-Reaktionen teilnehmen und dann zu einem Mischbild von Blut- und Sekretmuster führen können.

Sekret	SPEICHEL				SCHWEISS	NASENSEKRET	SPERMA
	Filterpapier	Zigaretten	Briefmarke / Umschlag	Filterpapier			
Spurenträger							
InV (1)	in den meisten Fällen <u>sicher</u> nachgewiesen, keine Korrelation zur ABH-Sekretion	nachgewiesen	wegen unspezifischer Hemmung <u>nicht</u> nachweisbar	nicht nachgewiesen	immer <u>sicher</u> nachgewiesen	Papiertaschentuch	Baumwollläppchen
Gm-Faktoren	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.			im <u>Blindversuch</u> nachgewiesen
Zahl der untersuchten Proben	35	5	5	6			
Unspezifische Hemmung	<u>nicht</u> beobachtet	nicht beobachtet	stark, durch die <u>Spurenträger</u>	geringfügig, durch verunreinigtes Sekret verursacht	nicht beobachtet	Gm (1, 2, 4, 5, 21) nicht immer <u>sicher</u> nachgewiesen	Gm (4, 5, 21) nicht immer <u>sicher</u> nachgewiesen
Stabilität	mindestens 5 Mo.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	22 bzw. 7	geringfügig, häufig, durch die <u>Spur</u> selbst
	stimulierter Parotispeichel	unstimul. Gesamtspeichel					mindestens 2 Mo.
g G [mg/100 ml]	< 1	~ 1,5	~ 3	~ 15	~ 20		
g A [mg/100 ml]	~ 4	~ 20	~ 1	~ 150	~ 2		
g M [mg/100 ml]	< 1	< 1	-	~ 1	-		

Tab. 15. Zusammenfassende Darstellung der eigenen Ergebnisse. Im Vergleich dazu der Immunglobulin-Gehalt der untersuchten Sekrete. (Die Werte für Speichel, Schweiß und Nasensekret nach BRANDTZAEG et al., für Sperma nach BLENK et al.) n. u. = nicht untersucht

D. Zusammenfassung

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, die Nachweisbarkeit von Faktoren des Gm- und InV-Systems, antigener Strukturen auf Immunglobulinen, in menschlichen Sekreten zu prüfen. Der Nachweis von Gm(1) im Sperma war bereits von KRÄMER, KLOSE und SCHRAVEN sowie LEONHARDT beschrieben worden. Die hierbei angewandte Methode (Absättigung eines Antiserums durch Inkubation mit der Sekretpur und anschließende Prüfung der Titerreduktion im Hämagglutinations-Hemmtest) wurde in der vorliegenden Arbeit verfeinert und durch Vorversuche in ihren Einzelheiten festgelegt. Eine Schätzung ihrer Empfindlichkeit für den InV(1)-Nachweis ergab nach Versuchen an verdünntem Serum, daß mit einem Nachweis dieses Faktors zu rechnen ist, wenn die Gesamtimmunglobulin-Konzentration in dem jeweiligen Sekret in der Größenordnung von 5 mg/100 ml liegt. Dem entsprachen in dieser Arbeit das sichere Gelingen des InV(1)-Nachweises im Nasensekret (hoher IgA-Gehalt) und im Sperma (hoher IgG-Gehalt), der in zwei Dritteln der Fälle gelungene Nachweis im Speichel (IgA-Gehalt im Grenzbereich der Methode) und die immer negativen Befunde im Schweiß (niedriger Gehalt an IgG und IgA). Für den InV(1)-Nachweis im Speichel wurde eine Korrelation zur ABH-Ausscheidung ausgeschlossen: auch bei Nichtausscheidern für ABH-Substanzen war das InV(1)-Merkmal im Speichel vorhanden. Der Nachweis der Gm-Faktoren wurde nur im Nasensekret (Gm(1), Gm(2), Gm(4), Gm(5) und Gm(21)) sowie im Sperma (Gm(4), Gm(5) und Gm(21)) versucht, da Speichel und Schweiß zu geringe Mengen an IgG,

dem Träger der Gm-Faktoren, enthalten. In den meisten Fällen gelang der Nachweis; in etwa einem Drittel der Fälle waren allerdings die Ergebnisse nicht eindeutig. Um seine praktische Anwendbarkeit zu prüfen, wurde der InV(1)-Nachweis auch an Zigaretten, Briefmarken und Briefumschlägen, die mit Speichel benetzt worden waren, vorgenommen. Während er bei den Zigaretten gelang, zeigten sich bei den Briefmarken und Umschlägen überraschend falsch-positive Ergebnisse mit unspezifischer Hemmung der Hämagglutination durch die Spureenträger. Unspezifische Hemmungen wurden auch beim Schweiß und beim Sperma beobachtet. Hier waren sie aber durch die Spur selbst bedingt und nur schwach ausgeprägt, so daß sie nicht zu falsch-positiven Ergebnissen führten. Die hohe Lagerungsstabilität des InV(1)-Merkmals zeigte sich darin, daß auch an 5 Monate alten Speichel- und 2 Monate alten Spermaspuren der Nachweis sicher gelang.

E. Literatur

- ALIEFF, A.: Immunglobulinspiegel nach Operationen. Die gelben Hefte (Behringwerke) 14, 62-64, 1974
- AMBRUS, M., G. BAJTAI, K. BARNA, L. HORVATH und A. CSER: 20 Fälle von primärem IgA-Mangel. Die sich dem IgA-Mangel hinzugesellenden klinischen Bilder. Orv. Hetil. 115, 1143-1149, 1974
- BLANC, M., R. GÖRTZ and J. DUCOS: The value of Gm typing for determining the racial origin of blood stains. J. Forensic Sci. 16, 176-182, 1971
- BLANC, M., R. GÖRTZ, J. DUCOS et R. MADRANGE: Pouvoir inhibiteur d'un support de tache sur le sérum anti-Gm(1) au cours d'une expertise médico-légale. Méd. Lég. Domm. Corpor. 4, 15-18, 1971
- BLENK, H., A. HOFSTETTER, R. BÖWERING, R. BUTTLER, M. HARTMANN und F.J. MARX: Immunelektrophorese des Ejakulats. Münch. med. Wschr. 116, 35-38, 1974
- BRANDTZAEG, P., I. FJELLANGER and S.T. GJERULDSSEN: Human secretory immunoglobulins. I. Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. Scand. J. Haemat., Suppl. 12, 1-83, 1970
- CEGLA, U.H.: Zur statistischen Verteilung von IgA, IgG und IgM bei 20-30jährigen weiblichen und männlichen Normalpersonen. Z. klin. Chem. 12, 207-209, 1974
- CSER, A., M. AMBRUS, G. BAJTAI, T. HEIM und G. VARGA: Juveniler Diabetes mellitus und selektiver IgA-Mangel. Orv. Hetil. 115, 803-806, 1974

- GRODECKA, U.: Über die Bestimmung der ABO-Substanzen in menschlichen Speichelspuren. Kriminalistik und forensische Wissenschaften 4, 147-149, 1971
- GRUBB, R.: The Genetic Markers of Human Immunoglobulins. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1970
- HENNIG, A. und A. RACKWITZ: Untersuchungen über die praktische Anwendung der Sekretorbestimmung mittels einer Filterstreifenmethode. Die Heilberufe 1, 11-13, 1961
- HUMPHREY, J.H. and R.G. WHITE: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Thieme, Stuttgart 1972
- KIENHOLZ, M., G. BINDEWALD und K. STOCKINGER: Die Immunglobuline. Dtsch. Ärztebl. 22, 1459-1466, 1973
- KIJEWSKI, S. und U. v. MÜLMAN: Der Einfluß pedologischer Unterschiede auf die Mengenbestimmung und Erfäßbarkeit serologischer Eigenschaften von Blutspuren im Erdboden. Z. Rechtsmedizin 75, 253-263, 1975
- KLOSE, I. und J. SCHRAVEN: Die Bestimmung von Gm^a im Sperma. Z. gerichtl. Med. 52, 610-614, 1961/62
- KRÄMER, K.: Untersuchungen über das Vorkommen von Gm(a)-Substanz in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten. Z. gerichtl. Med. 53, 131-141, 1963
- LEITHOFF, H. und I. LEITHOFF: Immunelektrophoretische Untersuchungen des menschlichen Spermas. Acta Med. Leg. Soc. 18, 55-71, 1965
- LEONHARDT, H.H.: Untersuchungen über optimale Verfahren zum Nachweis von Blut- und Serumgruppenmerkmalen in Spermaflecken. Diss. Marburg 1968

- MAYER, H.: Der Einfluß des Spurenträgers auf die Agglutininbindungsreaktion. Gruppenserologische Untersuchungen an menschlichem Schweiß. Diss. Würzburg 1969
- NATVIG, J.B. and H.G. KUNKEL: Genetic markers of human immunoglobulins. The Gm and InV systems. Series Haematol. Vol. I 1, 66-96, 1968
- NIELSEN, J.C. and K. HENNINGSEN: Note on the possibility of demonstrating the Gm-factors in semen. Med. Sci. Law 3, 272-274, 1963
- OEPEN, I.: Zur Blutgruppenprägung menschlicher Körpergewebe. Habilitationsschr. Marburg 1973
- PROKOP, O., B. LANDES und M. ROSE: Über den Nachweis von Gm(a) in Gallensteinen. Kriminalistik und forensische Wissenschaften 5, 87-92, 1971
- PROKOP, O. und G. UHLENBRUCK: Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen. VEB Thieme, Leipzig 1966
- RACKWITZ, A.: Ein neues Plexiglasplättchen für Blutgruppentests, insbesondere den Nachweis der Serumeigenschaften Gm^a und Gm^x. Dtsch. Gesundheitswesen 16, 2469-2470, 1961
- RÜMKE, P.: The origin of immunoglobulins in semen. Clin. exp. Immunol. 17, 287-297, 1974
- SCHLEYER, F.: Leitfaden der gerichtlich-medizinischen Blutspuren-Untersuchung. Schmidt-Römhild, Lübeck 1966
- SCHULZ, P., G. GATHOFF und H. HAUG: Normalwerte der Immunglobulinfraktionen IgA, IgG und IgM sowie von anderen Serumeiweißfraktionen bei Kindern. Ärztl. Lab. 20, 151-155, 1974

- THIELE, H.G.: Paraproteinerkrankungen. In: Aktuelle Immunologie in Klinik und Praxis. Symposion der Ärztekammer Hamburg 1971. Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg 1971
- TOMASI, T.B.: Die sekretorischen Immunglobuline. Die gelben Hefte (Behringwerke) 14, 65-74, 1974
- TSUGAWA, N., Y. YAMAGUCHI and Z. HAYASHI: Starch electrophoresis of human seminal plasma. Act. crim. Japon. 20, 156-164, 1967
- TURNER, M.W., L. MARTENSSON, J.B. NATVIG and H. BENNICH: Genetic (Gm) antigens associated with subfragments from the Fc fragment of human immunoglobulin G. Nature 221, 1166-1169, 1969
- UNDERDOWN, B.J.: Das sekretorische Immunsystem. Klinikarzt 2, 7-18, 1973
- WIEBECKE, D.: Die Frequenzen von Gm(1,2,3,5) und Inv(1) in der Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland. Humangenetik 18, 175-180, 1973

Frau Professor Dr. med. I. Oeben danke ich sehr für die
Überlassung des Themas, ihre Anregungen und Hinweise.

Herrn Professor Dr. med. F. Schleyer bin ich für die
Übernahme des Correferats dankbar.

Mein Lebenslauf

Ich wurde am 24.9.1951 in Neuhaus bei Paderborn als Sohn des Verwaltungsangestellten Heinrich Jorch und seiner Ehefrau Käthe, geb. Wiesing, geboren. Ostern 1958 wurde ich in die St. Heinrichsschule in Schloß Neuhaus eingeschult. Von 1962 bis 1970 besuchte ich das altsprachliche Gymnasium Theodorianum in Paderborn, wo ich meine Reifeprüfung ablegte. Zum Wintersemester 1970/71 immatrikulierte ich mich an der Philipps-Universität Marburg für Humanmedizin. Im Sommersemester 1971 wurde ich in die Studienstiftung des deutschen Volkes aufgenommen. Im Sommer 1971 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Frühjahr 1973 die ärztliche Vorprüfung. Die ersten beiden Semester meines klinischen Studiums absolvierte ich am Lehrkrankenhaus in Kassel, bevor ich mein Studium in Marburg fortsetzte.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Aust, Beckmann, Buchholz, Dehnicke, Dimroth, Dombrowski, Exner, Friederich, Giebel, Hamelmann, Haberich, Hardewig, Heinecker, Hensel, Hilgermann, Hort, Huch, Jacob, Kalbfleisch, Karlson, Kleinsasser, Koecke, Koransky, Kreutz, Krokowski, Linneweh, Mannheim, Maroske, Martini, Nultsch, Oepen, Petry, Pfau, Rodeck, Rohen, Schiff, Siegert, Straub, Suchenwirth, Walcher, Wepler, Wildhirt, Wolf, Wulf.

